

Л.В. Лагун¹, С.В. Жаворонок²

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БИОПЛЕНКИ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

УО «Гомельский государственный медицинский университет»¹,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»²

Образование биопленок является фактором развития и персистенции инфекционных заболеваний. Свойством микроорганизмов-возбудителей инфекций мочевыводящих путей является способность к формированию биопленки, структура и физиологические свойства которой обеспечивают повышение устойчивости к антибиотикам, антисептикам и влиянию со стороны иммунной системы макроорганизма. В клинической урологии и нефрологии биопленки влияют на развитие рецидивирующего цистита, пиелонефрита, мочекаменной болезни, образуются на мочевых катетерах.

Ключевые слова: биопленки, система «чувство кворума», инфекции мочевыводящих путей, пиелонефриты, циститы, мочекаменная болезнь, мочевые катетеры, резистентность к антибиотикам

L.V. Lagun, S.V. Zhavoronok

BACTERIAL BIOFILMS AND THEIR ROLE IN URINARY TRACT INFECTIONS

Biofilm formation is a factor in the development and persistence of infectious diseases. The characteristics of etiologic agents of urinary tract infections are ability to form biofilm, the structure and physiological nature of which provide decreased susceptibility to antibiotics, antiseptics, and to immune system. In clinical urology and nephrology biofilms influence the development of recurrent cystitis, pyelonephritises, urolithiasis and affect urinary catheters.

Key words: biofilms, «quorum sensing», urinary tract infections, pyelonephritises, cystitis, urolithiasis, urinary catheters, resistance to antibiotics.

Клинический обзор

Вопросы формирования биопленок и изучение их роли в патологических процессах представляет большой интерес в медицине. В настоящее время считается, что более 65% всех инфекционных заболеваний обусловлены микроорганизмами, существующими в форме биопленок [5, 38]. Концепция биопленок затрагивает инфекционные поражения большинства органов (верхних дыхательных путей, легких, сердца, почек, кожи, костей, системы пищеварения) и практически всех искусственных имплантатов.

К числу заболеваний, связанных с присутствием биопленок, относятся и инфекции мочевыводительных путей (пиелонефрит, цистит, мочекаменная болезнь и др.) [16, 23, 35, 36]. Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) относятся к наиболее распространенным заболеваниям как в амбулаторной, так и во внутрибольничной практике во всем мире. Распространенность ИМП в амбулаторной практике урологов, акушер-гинекологов и терапевтов в России составляет 1000 случаев на 100000 населения в год [4]. В Соединенных штатах Америки ИМП являются причиной более 100000 госпитализаций в год, преимущественно по поводу пиелонефрита [22]. ИМП являются одними из самых распространенных инфекций не только среди взрослого населения, но и в детском возрасте, встречаясь несколько реже, чем инфекции верхних дыхательных путей. После перенесенных острых заболеваний часто формируется хронический инфекционный процесс в различных вариантах клинического течения. Механизмы формирования хронических инфекционных заболеваний и разработка способов борьбы с ними являются одной из самых актуальных проблем современной инфектологии. Наносимый хроническими инфекциями социально-экономический ущерб связан с ростом стоимости лечения и профилактики рецидивов ИМП, со значительной потерей трудоспособности и возможным неблагоприятным исходом для пациента с развитием прогрессирующих поражений почек и системных осложнений [6, 20, 22, 29].

Одним из механизмов реализации хронического инфекционного процесса является существование бактерий в организме не в виде одиночных клеток, а в виде биопленок. Доказана способность формировать биопленки у подавляющего большинства клинически значимых микроорганизмов. Открытие и изучение биопленок является одним из наиболее важных достижений медицинской и клинической микробиологии последних 25 лет. Все представители нормальной микрофлоры в организме человека существуют в составе биопленок. С их образования также начинается развитие любой инфекции, в том числе и инфекции мочевыводительной системы. Формирование биопленок – один из факторов патогенности микроорганизмов [19, 23, 24, 31, 32]. Биопленка представляет собой динамическое сообщество микроорганизмов, заключенных в синтезируемый ими полимерный матрикс и тесно связанных с подлежащей поверхностью. Бактериальные биопленки могут быть образованы бактериями одного или нескольких видов и состоять как из активно функционирующих клеток, так и из покоящихся или некультивируемых форм. Морфологическая дифференциация сообщества происходит в ответ на действие таких факторов внешней среды, как изменение температуры, pH среды, осмолярности и сопровождается изменением метаболизма, гидродинамики, коммуникативных связей и т.д. Бактериальные клетки распределены в толще биопленки неравномерно: они сгруппированы в микроколонии, окруженные обволакивающим межклеточным матриксом.

Матрикс – это ключевой структурный компонент биопленки, состоящий из экзополисахаридов, белков, нуклеиновых кислот и липидов. Этот слизистый трехмерный биополимер неоднороден в разных слоях, и у различных видов бактерий не одинаков по физическим свойствам и химическому составу. Экзопполисахариды матрикса представлены гомо- и гетерополисахаридами. В состав экзополисахаридов входят уроновые кислоты (главным образом, глюкуроновая) и аминсахара. В настоящее время идентифицирован состав экзополисахаридов ряда бактерий. Показано, что *P. aeruginosa* образует альгинат – сополимер маннуроновой и глюкуроновой кислот. Экзопполимер *E. coli* включает колановую кислоту. Целлюлозу образуют различные представители энтеробактерий. Матрикс пронизан каналами, по которым циркулируют питательные субстраты, ферменты, сигнальные метаболиты, кислород, продукты метаболизма бактериальных клеток. Он участвует во взаимодействии клеток с соседними клетками и колонизируемой поверхностью, фиксируя бактерии в экологических нишах, где существует угроза смыва током жидкости. Матрикс является защитой бактерий от стрессовых ситуаций, таких как ультрафиолетовое облучение, изменения в pH среды, осмотический шок, высыхание, воздействие антибактериальных препаратов и механизмов защиты хозяина [5, 21, 31, 38]. Установлена роль матрикса в образовании полимикробных биопленок. В результате взаимодействия с поверхностью нередко происходит колонизация представителями одного вида бактерий. Образование биопленки этим видом способствует захвату других бактерий, не способных к первичной колонизации, но имеющих собственный гликокаликс, близкий по составу к гликокаликсу ранее прикрепившихся бактерий. Нередко в смешанных бактериальных популяциях образуются коагрегаты за счет слипания благодаря экзополисахариду матрикса. Коагрегация имеет большое значение для существования бактериальных сообществ. С одной стороны, она способствует образованию смешанных биопленок, объединяющих различные микроорганизмы на основе синергизма, с другой – может «очищать» окружающую среду от патогенных бактерий при их взаимодействии с бактериями-антагонистами [5].

Биопленка как сообщество микроорганизмов формирует единую генетическую систему в виде плазмид – мобильных кольцевых низкомолекулярных ДНК, несущих поведенческий код для членов биопленки, определяющих их трофические, энергетические и другие связи между собой и окружающей средой – в частности, иммунокомпетентным организмом. Последнее получило специальное определение как социальное поведение микроорганизмов – так называемый «quorum sensing» («чувство кворума»). Этот механизм позволяет бактериям действовать коллективно, подобно клеткам в многоклеточном организме. «Чувство кворума» позволяет бактериям обмениваться информацией с помощью специализированных химических молекул. Система «quorum sensing» следит за плотностью клеток бактериальной популяции и связана с изменениями в метаболизме бактериальных клеток, восприятием клетками изменений среды и реакцией на эти изменения при достижении бактериальной культурой некоторой пороговой численности. Сигнальные молекулы систем «quorum sensing» бактерий могут узнаваться эукариотическими клетками хозяев бактерий и индуцировать специфические ответы [9, 19, 28, 38].

Достаточно подробно изучены реакции «quorum sensing» для биопленок, образованных *Pseudomonas aeruginosa*. Образование многих внеклеточных факторов

вирулентности *P. aeruginosa* в биоплёнке контролируется системами межклеточного взаимодействия, центральными компонентами которых служат *las*- и *rhl*-системы «quorum sensing», активирующие экспрессию генов в зависимости от величины плотности клеток микроорганизма [11].

Считается доказанным, что социальное поведение микробов биопленки повышает вирулентность и патогенность всех возбудителей [5, 19, 38]. Например, значимость системы «quorum sensing» у *P. aeruginosa* для ее существования в макроорганизме во время острой инфекции, вероятно, связана с необходимостью преодоления защитных сил организма-хозяина. Незначительная продукция факторов патогенности небольшим числом бактерий, возможно, приводила бы к эффективному ответу хозяина, который нейтрализовал бы вирулентные свойства возбудителя и его самого. Однако координированная экспрессия генов вирулентности всей популяцией при достижении определенной плотности бактерий позволяет *P. aeruginosa* продуцировать внеклеточные факторы только тогда, когда они могут производиться в количествах, позволяющих преодолеть защитные силы макроорганизма. Изменение баланса между защитными силами и продукцией бактериальных токсинов может приводить к инвазии кровеносных сосудов, диссеминации возбудителя и синдрому системного воспалительного ответа. Даже адекватная антибиотикотерапия не всегда способна остановить течение заболевания на этом этапе, поэтому такой процесс необходимо блокировать как можно раньше, прежде чем системой «quorum sensing» не будет скоординирована экспрессия генов вирулентности [11]. Таким образом, от процесса «quorum sensing» зависит формирование и сохранение структурной целостности бактериальной биопленки.

Выделяют пять стадий развития бактериальной биопленки [1, 5, 18, 19]:

- первичное прикрепление микроорганизмов к поверхности (адгезия) из окружающей среды (обычно жидкости);
- окончательное (необратимое) прикрепление, иначе называемое фиксацией.
- созревание биопленки;
- рост и образование взрослой зрелой биопленки в белково-полисахаридном каркасе;
- дисперсия (выброс бактерий), при которой периодически от зрелой биопленки отрываются отдельные клетки, способные через некоторое время прикрепиться к поверхности и образовать новую колонию.

Начальные элементы биопленки могут сформироваться в течение двух часов инкубации, достигая максимальной интенсивности уже через 24 часа.

Микроорганизмы образуют биопленки на любых биотических и абиотических поверхностях, что создает большие проблемы в медицинской практике и в различных областях хозяйственной деятельности.

Биопленки могут формироваться в естественных местах обитания в природе, например, в водоемах, что может вызвать изменение качества воды. Также биопленки представляют собой большую технологическую проблему при использовании оборудования, в том числе нефтепроводов, труб промышленного назначения, замкнутых циркулирующих систем жидкости подводных лодок, космических кораблей, кондиционеров и т.д. [5].

Микробные биопленки формируются во внутренних полостях живых организмов, сообщающихся с окружающей средой. Эти полости изнутри выстланы слизистой

оболочкой и омываются различными видами секретов, которые являются прекрасным питательным субстратом для разнообразных микроорганизмов. Свыше 500 видов различных бактерий населяют биопленки организма человека (макроорганизма). Все представители нормальной микрофлоры в организме человека существуют в составе биопленок. Качественный и количественный составы биопленок слизистых оболочек и микробной флоры организм в целом зависят прежде всего от условий обитания, т.е. особенностей строения, функционирования и питательных субстратов, находящихся в той или иной полости, органе участка макроорганизма. Поэтому в организме выделяется множество биотопов, различающихся по условиям обитания и микробной колонизации. Макроорганизм посредством различных механизмов прямо (механизмы иммунной защиты) или косвенно (механизмы неспецифической защиты) регулирует колонизацию биотопов. Все эти механизмы препятствуют заселению биотопов микробной флорой, том числе патогенной. Эта способность получила название колонизационная резистентность. Колонизационная резистентность разных биотопов существенно различается, однако в то же время ее выраженность зависит от равновесия всех составляющих факторов. Следует учесть, что микробиоценоз организма, биопленки слизистых оболочек сами являются важнейшим фактором колонизационной резистентности [24, 31]. Таким образом, биопленки приносят не только вред.

Однако для медицинских работников «головной болью» является образование биопленок на хирургическом инструментарии, эндоскопах. Возникновение многих хронических инфекций, как теперь установлено, обусловлено способностью бактерий расти в виде биопленок на медицинском и планируемом оборудовании (контактные линзы, катетер-стенды, артериовенозные шунты, эндопротезы, искусственные клапаны сердца, внутриматочные спирали и пр.) Способностью формировать биопленки на медицинском оборудовании обладают как грамположительные (*Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus viridians*), так грамотрицательные (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*) микроорганизмы [1, 25, 3].

Из-за устойчивости бактерий в составе биопленки стерилизация очень часто эффекта не дает, приходится использовать одноразовые инструменты. С биопленками, скользящими на поверхностях стен, полов, кроватей, тесно связана и проблема внутрибольничных инфекций. Так гигиеническая проблема превращается в молекулярно-биологическую. Чрезвычайно трудно извести эти биопленки из родильных домов, порой для этого приходится проводить не капитальный ремонт, поскольку ни УФ-облучение, ни дезинфицирующие средства не помогают.

Биопленки могут осложнять течение заболеваний мочевыделительного тракта. Наиболее частыми возбудителями ИМП являются энтеробактерии, главным образом – *E. coli*, а также *Proteus spp.* и *K. pneumoniae*. Большой удельный вес в структуре уропатогенов занимает *P. aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Вид и характер инфекции имеют большое значение в этиопатогенезе заболеваний мочевыделительного тракта [4, 13, 14, 33].

Планктонные бактерии могут достигать почек восходящим путем и способны прикрепляться к уроэпителию почечным сосочкам в почечных собирательных системах. Бактериальная адгезия является основным моментом колонизации тканевых поверхностей организма-хозяина. Неспецифическая адгезия происходит за счет спосо-

ности микроорганизмов фиксироваться к поверхностям за счет гидрофобных и гидрофильных взаимодействий и/или электростатических сил. Бактериальная поверхность заряжена отрицательно, причем у грамположительных микроорганизмов это обусловлено наличием в клеточной стенке тейхоевых и липотейхоевых кислот, а у грамотрицательных – присутствием кислых липополисахаридов и белков. Неспецифическое прикрепление микроорганизмов к уроэпителию в большей степени обратимо. Специфическая адгезия осуществляется после молекулярных взаимодействий между адгезинами микроорганизмов и рецепторами клеток хозяина. Адгезины – это специфические макромолекулярные комплексы микробных клеток, входящие в состав бактериальных фимбрий или поверхностных структур клеточной стенки, с помощью которых происходит фиксация возбудителя на поверхности слизистой.

Способностью к адгезии *E. coli* обязана фимбриям (гликопротеидным ворсинкам). Комплементарностью к рецепторам клеток мочевого пузыря обладают фимбриии I типа, к рецепторам клеток мочеточников и лоханок – Р-фимбриии. Для развития пиелонефрита в нормальном мочевом тракте необходим Gal-специфический адгезин Р-фимбрий *E. coli*. Особой адгезивностью отличаются бактерии, несущие на себе так называемые маннозорезистентные Р-фимбриии. Бактерии, обладающие маннозочувствительными Р-фимбриями, в большей степени оказываются доступными фагоцитозу благодаря способности D-маннозы блокировать их адгезивные свойства. Имеются данные о том, что введение анти-Р-фимбриальных антител перед заражением экспериментальных животных предотвращало возникновение у них пиелонефрита [2, 30]. У *E. coli* оба типа фимбрий (I типа и Р) запускают воспалительный ответ организма-хозяина, который включает продукцию цитокинов, воспалительную реакцию и отшелушивание инфицированных клеток уротелия [36].

Вирулентность протей, как и кишечной палочки, проявляется в его способности прилипать к уроэпителию и продвигаться по нему против тока мочи, противодействовать опсонизации и фагоцитозу и давать эндотоксический эффект. Способностью к адгезии *Proteus spp.* обязан фимбриям. Подвижные («роящиеся») Н-формы протей – основные морфологические формы, способные прикрепляться к клеткам паренхимы почечной ткани и эпителию мочевого пузыря, что обусловлено интенсивным образованием протеза, уреазы и гемолизина [7, 30].

К факторам адгезии *P. aeruginosa* относят фимбриии, или пили, и экстрацеллюлярную слизь, которая усиливает адгезивные свойства мукоидных штаммов синегнойной палочки. Даже если у бактерий на поверхности нет фимбрий (что подтверждается электронной микроскопией), они не теряют способности к прилипанию к клеткам мочевого пузыря. По-видимому, у синегнойной палочки существует и другие механизмы адгезии, не зависящие от образования фимбрий. Изучение его представляет большой интерес, так как уропатология, обусловленная синегнойной инфекцией, встречается достаточно часто [3].

При изучении процесса биопленкообразования *in vitro* было показано, что важную роль в образовании биопленок бактериями, в частности, такими как *E. coli*, *P. aeruginosa* играют жгутики: неподвижные мутанты этих бактерий обладают значительно пониженной способностью к образованию биопленок. Кроме того, жгутики при образовании биопленок служат не только для обеспечения подвижности бактерий и хемотаксиса, но и играют решающую роль в ар-

хитектуре биопленок [31].

Адгезия во многом определяет характер и течение инфекции, является основной причиной инфекционных осложнений. Мочевые пути человека подчиняются силам гидродинамики, и адгезия микроорганизмов к уроэпителию дает им возможность противостоять удалению потоком мочи. Бактериальная адгезия не только способствует колонизации и образованию микроколоний, но также благоприятствует инвазии микроорганизмов, формированию биопленок на уроэпителиальной поверхности и повреждению клеток хозяина с развитием пиелонефрита. Периодическое высвобождение планктонных форм бактерий путем открепления и отшелушивания фрагментов микроколоний из биопленки в поток мочи до новой локализации и начала формирования новой биопленки служит источником поддержания хронического инфекционного и воспалительного процесса в почках [16, 27, 34, 36].

Биопленки на поверхности уроэпителиа легче поддаются эрадикации антимикробными агентами по сравнению с биопленками, которые образуются на чужеродных объектах, находящихся в мочевыделительной системе. Инородные тела в мочевых путях (камни, катетеры, дренажи, стенты) подвергаются быстрой (в течение 24–72 ч) колонизации своих поверхностей микроорганизмами с формированием биопленок, становятся дополнительными очагами инфекции для организма, что приводит к развитию осложненных инфекций мочевыделительной системы, например, «катетер-ассоциированной ИМП», «инфекции инородного тела» [8, 16, 25, 36, 37].

Мочевые катетеры обладают превосходной поверхностью для роста и развития микробных биопленок. Как правило, растут на катетерах такие бактерии как *S. aureus*, *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*. Хотя антибиотикотерапия с использованием катетера предотвращает самые ранние биопленочные образования, длительный срок использования катетера и/или несоблюдение правил асептики и антисептики при эндоуретральных и эндовезикальных манипуляциях в большинстве случаев приводит к инфицированию и осложнению заболеваний мочевыделительного тракта. На скорость и обширность формирования биопленок на мочевых катетерах влияет ряд факторов. Среди них можно отметить количество контаминирующих микробных клеток, скорость потока жидкости через катетер, физико-химические характеристики поверхности (материал изготовления) и температуру окружающей среды. При этом компоненты жидкости могут менять свойства поверхности и скорость прикрепления к ней микробных клеток. Формирование биопленки начинается сразу после прикрепления клеток к поверхности катетера [25, 35, 36]. Таким образом, мочевой катетер как инородное тело становится очагом инфекции для организма, и бактериурия в таких случаях становится неизбежной. Чаще всего после удаления инородных тел из мочевых путей бактериурия исчезает.

Однако наибольшие трудности представляет персистенция микроорганизмов в слизистой оболочке мочевых путей без наличия или после удаления катетеров, инородных тел. Так называемый рецидивирующий, или персистирующий, бактериальный цистит (свыше 3 обострений в год) наблюдается у 25–40% женщин после однократного эпизода острого цистита. Многие виды бактерий способны паразитировать внутриклеточно, проявляя тропность к различным клеткам хозяина – факультативный паразитизм. Кишечная палочка, например, может паразитировать в

клетках эпителия и макрофагов. Наличие фимбрий и ферментативная активность микроорганизмов обеспечивает им проникновение в клетку или межклеточное пространство. Так, уропатогенные кишечные палочки проникают в эпителиальные клетки стенки мочевого пузыря и внутри них формируют внутриклеточные бактериальные сообщества. Растущие колонии бактерий, окруженные матриксом биопленки, формируют в стенке мочевого пузыря скопления в виде «коконов», выпячивающихся в его просвет. Время от времени «коконы» разрываются и бактерии, попадая в мочу, вызывают повторные инфекции мочевыводящих путей [12, 36]. Необходимым условием персистенции являются определенные биологические свойства микроорганизма и дефектность защиты хозяина, что обуславливает бактерионосительство (персистенция возбудителей) и хронизацию воспалительного процесса (частые рецидивы заболевания). Снижая вирулентность или изолируясь в очагах локального иммунодефицита, бактерии могут уклоняться от факторов защиты человека. Подавление же факторов защиты хозяина идет за счет повышения вирулентных свойств бактерий или в результате диссеминации в иммунокомпрометированном организме [17]. Высокая приспособляемость микроорганизмов к постоянно меняющимся условиям существования особенно проявляется при антибиотикотерапии – обесцениваются целые классы антибиотиков за счет селекции резистентных штаммов микроорганизмов. Лечение персистирующей или хронической ИМП и эффективная санация от бактерионосительства представляют большую проблему. Во внутриклеточных бактериальных сообществах резистентность к антибиотикам обусловлена: ограниченным проникновением антимикробных веществ в биопленки; различием в метаболической активности и скорости роста отдельных клеток бактерий, т.к. многие антибиотики не действуют на клетки, находящиеся в покое; уменьшением диффузии антибактериального препарата внутрь; инактивацией антибиотика внутри матрикса.

Бактерии, инфицирующие мочевыводящие пути, не только поддерживают хроническую инфекцию за счет повышенной устойчивости биопленок к терапии, но и способствуют камнеобразованию. Инфекция, локализуясь как в почечной ткани, так и в мочевых путях, является важным патогенетическим звеном в генезе камнеобразования при мочекаменной болезни. Чаще всего это пиелонефрит, который, наслаиваясь на врожденные и приобретенные тубулопатии, играет существенную роль в образовании конкрементов. В соответствии с одной из теорий патогенеза мочекаменной болезни (теория матрицы) процесс камнеобразования начинается с формирования белкового ядра, на котором затем откладываются соли. При этом органическая матрица обычно представлена мукопротеином, который является ядром почечного камня, вокруг которого и происходит кристаллизация мочевых солей. Ядром камня в ряде случаев может быть и микробная биопленка. Около 30% камней являются инфекционными. Появлению микробных ядер камнеобразования способствует возникновение под воздействием бактериальной инфекции или ее токсинов участков поражения слизистой оболочки мочевых путей. За счет изменения защитного слоя уроэпителия и формирования на нем микробных биопленок в 5-6 раз увеличивается адгезия струвитных кристаллов. Роль уреазопродуцирующих бактерий (*Proteus spp.*, *Ureaplasma urealyticum*, *Providencia spp.*, *Klebsiella spp.*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* и др.) в генезе нефролитиаза заключается в том, что под воздействием бактериальной уреазы расщепляют-

ся молекулы мочевины с образованием аммиака. Степень активности уреазы, которую продуцируют уропатогенные бактерии, различна в зависимости от вида микроорганизма. Наиболее высокой уреазной активностью обладают протей, стафилококки, клебсиеллы. Это приводит к изменению кислой реакции мочи на щелочную, то есть происходит ощелачивание мочи. Реакция мочи имеет существенное значение в образовании камней. При щелочной реакции мочи замедляется растворимость кристаллических элементов и создаются благоприятные условия для выпадения их в осадок. При этом происходит оседание струвита и апатита, заключенных в экзополимерном матриксе биопленки. Таким образом, микробные биопленки способствуют кристаллизации конкрементов из мочи [7, 8, 15, 16, 35, 36].

Существование бактерий внутри биопленок обеспечивает им много преимуществ по сравнению с изолированными клетками. Для практической медицины особенно важно, что бактерии в биопленках обладают повышенной выживаемостью в присутствии агрессивных веществ физической, химической и биологической природы, факторов иммунной защиты макроорганизма и антибактериальных препаратов. Оказалось, что биопленки способны выдерживать высокие концентрации антибиотиков, которые в 100-1000 раз превышают концентрации, подавляющие обычные бактериальные клетки в культуральной среде, в связи с чем и эффективность большинства режимов санации и дезинфекции в реальных условиях является недостаточной [26]. Формирование биопленки является способом выживания клинически значимых микроорганизмов. Колонизируя уроэпителий, микроорганизмы объединяются в бактериальные сообщества и становятся практически недоступными для антибактериальных препаратов.

Биопленка – это живая, динамически развивающаяся система, поэтому и резистентность нужно рассматривать как динамическое понятие.

Механизмы, формирующие антибиотикорезистентность биопленочных бактерий [10, 16]:

- ограниченное проникновение антимикробных веществ в биопленки (матрикс замедляет этот процесс и связывает антибиотики);
- инактивация антибиотиков внеклеточными полимерами или ферментами;
- различия в метаболической активности и скорости роста отдельных клеток бактерий (медленно растущие и/или не растущие клетки слабо восприимчивы ко многим антибактериальным агентам);
- ограничение питательных веществ и измененная микросреда в биопленке приводят к уменьшению скорости деления бактерий, вследствие чего остается меньше мишеней для действия антибиотиков;
- сигналы «quorum sensing»;
- повышенная мутабельность бактерий в биопленке;
- экспрессия невыявленных генов резистентности;
- межвидовая передача генов антибиотикорезистентности, которая более успешно реализуется в условиях тесного контакта бактерий внутри биопленки (наиболее сложные сочетания антибиотикорезистентности наблюдаются в полимикробных биопленках);
- эффлюксная помпа;
- наличие в популяциях бактериальных клеток, способных выживать в стрессовых условиях (микроорганизмы-персистеры).

Клинический обзор

В настоящее время идет интенсивное изучение причин такой удивительной устойчивости бактерий к антибиотикам в биопленках.

Биопленки обладают устойчивостью не только к одному или нескольким однотипным антибиотикам, но и свойством множественной антибиотикорезистентности, т.е. устойчивостью к антибиотикам из разных групп. Множественная резистентность биопленочных бактерий может быть связана, по крайней мере, с тремя механизмами:

1. Существование в биопленке особых персистирующих форм бактерий или персистеров. Персистер – это нетипичный вариант клеток с обычным для данного штамма геномом, но с сильно заторможенным метаболизмом. Состояние метаболической инертности клеток с выключением многих биохимических процессов обычно называют «бактериальным анабиозом». В разных биопленках количество персистеров варьирует от 1 до 10%. Главной особенностью персистирующих клеток является их удивительная способность к выживанию при воздействии антибактериальных препаратов. Известно, что антибиотики эффективнее действуют на быстро растущие и размножающиеся клетки. Механизм действия антибиотиков связан с угнетением жизненно важных для бактерий биохимических процессов. Но антибактериальные агенты не могут заблокировать клетки-персистеры, так как в них метаболические пути ингибированы и без участия антибиотиков.

2. Фильтрующая способность матрикса. Матрикс не только связывает клетки в единую структуру, но и заполняет межклеточные пространства, образуя трехмерную фильтрующую систему. Это позволило назвать биопленку «молекулярным фильтром» и считать фильтрацию одной из важнейших функций биопленки. Опубликованы работы, в которых наблюдали замедленную диффузию антибактериальных веществ внутрь биопленок. Но элементы матрикса являются не только пассивным фильтром, замедляя диффузию антибиотиков сквозь биопленку, но и активно связывают антибиотики. Слизь, которая продуцируется некоторыми патогенами, заполняя межклеточное пространство в биопленках, также может обладать связывающим антибактериальный препарат действием. Структуры матрикса действуют против разных антибиотиков избирательно, что зависит не только от типа антибиотика и видовой принадлежности биопленкообразующих бактерий, но и от их штаммовых особенностей, а также от возраста биопленки, т.е. параметров, которые могут определять химический состав и архитектуру матрикса.

3. Внутри биопленки могут присутствовать популяции бактерий с разными защитными свойствами, дополняющими друг друга.

Таким образом, формирование микроорганизмами биопленок, персистенция бактерий в мочевых путях, повышенная резистентность к антимикробным препаратам биопленочных бактерий, представляет несколько из наиболее трудных задач успешного лечения инфекций мочевыводящей системы. Ликвидация зрелых биопленок является главной задачей клиницистов, поскольку именно они служат патогенетической основой биопленочного процесса. Для борьбы с биопленками используют два главных направления – блокаду взаимодействия бактерий с инвазивными материалами и уничтожение микроорганизмов, сформировавших биопленку. Попытки предотвратить заражение, заблокировав его механическим

путем, оправданы лишь для временных катетеров. Покрытие субстратов антимикробными препаратами также имеет ряд ограничений, которые связаны с развитием лекарственной устойчивости бактерий и быстрым освобождением полимерного материала от антимикробных агентов. Терапевтическое воздействие на биопленки может быть направлено на механизмы первоначальной адгезии бактерий к поверхности, блокирование синтеза или разрушение полимерного матрикса, нарушение межклеточного обмена информацией, а также оно может сочетаться с собственно бактерицидными агентами [1, 5]. Подобное лечение, действующее на структуру или функции биопленок, может оказаться более эффективным, чем стандартная антибактериальная терапия.

Литература

1. Голуб, А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? / А.В. Голуб // Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. – Том 14. – № 1. – С. 23-29.
2. Зубарева, И.В. Адгезия стафилококка и кишечной палочки к различным клеткам человека / И.В. Зубарева // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2003. – № 4. – С. 85-93.
3. Мороз, А.Ф. Синегнойная инфекция / А.Ф. Мороз – Москва: Медицина, 1988. – 256с.
4. Рафальский, В.В. Резистентность возбудителей амбулаторных инфекций мочевыводящих путей по данным многоцентровых микробиологических исследований UTIAP-I и UTIAP-II / В.В. Рафальский [и др.] // Урология. – 2004. – № 2. – С. 13-17.
5. Романова, Ю.М. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и в организме хозяина / Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 3. – С. 99-109.
6. Саркулова, М.Н. Характер и этиологическая структура внутрибольничной инфекции у урологических больных / М.Н. Саркулова // Урология. – 2006. – № 1. – С. 19-22.
7. Сулейманов, С.И. Роль инфекционного фактора в патогенезе уrolитиаза / С.И. Сулейманов [и др.] // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2010. – № 7. – С. 18-23.
8. Толордава, Э.Р. Микрофлора почечных камней при мочекаменной болезни и поиск средств борьбы с биопленками уропатогенных бактерий / Э.Р. Толордава и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 4. – С. 56-62.
9. Хмель, И.А. Quorum sensing регуляция экспрессия генов: фундаментальные и прикладные аспекты, роль в коммуникации бактерий / И.А. Хмель // Мол. биол. – 2006. – № 75. – С. 1-9.
10. Чеботарь, И.В. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И.В. Чеботарь, А.Н. Маянский и др. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Том 14, № 1. – С. 51-58.
11. Шагинян, И.А. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности / И.А. Шагинян, М.Ю. Чернуха // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Том 7, № 3. – С. 271-285.
12. Anderson, G.G. Host subversion by formation of intracellular bacterial communities in the urinary tract / G.G. Anderson, S.M. Martin, S.J. Hultgren // Microbes Infection. – 2004. – Vol. 6, № 12. – P. 1094-1101.
13. Bishop, M.C. Uncomplicated urinary tract infection / M.C. Bishop // EAU Updated Series. – 2004. – № 2. – P. 143-150.
14. Bouza, E. European perspective on nosocomial urinary tract infection / E. Bouza [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. – 2001. – № 7. – P. 523-531.
15. Bruyere, F. Infection and urinary lithiasis / F. Bruyere [et al.] // Expert. Opin. Biol. Ther. – 2008. – № 8. – P. 1159-1166.

16. Choong, S. Biofilms and their role in infections in urology / S. Choong, H. Whitfield // BJU International. - 2000. - Vol. 86. - P. 935-941.
17. Costerton, J.W. Bacterial biofilm: a common cause of persistent infections / J.W. Costerton, P.S. Stewart, E.P. Greenberg // Science. - 1999. - Vol. 284. - P. 1318-1322.
18. Davey, M.E. Microbial biofilm: from ecology to molecular genetics / M.E. Davey, G.A. O'Toole // Microbiol. Mol. Biol. Rev. - 2000. - Vol. 19. - P. 847-867.
19. Donlan, R.M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / R.M. Donlan, J.W. Costerton // Clin. Microbiol. Rev. - 2002. - Vol. 15. - P. 167-193.
20. Farrel, D.J. A UK Multicentre Study of the Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Pathogens Causing Urinary Tract Infection / D.J. Farrel [et al.] // Journal of Infection. - 2003. - Vol. 46. - P. 94-100.
21. Flemming, H.C., The biofilm matrix / H.C. Flemming, J. Wingender // Nat. Rev. Microbiol. - 2010. - № 8. - P. 623-633.
22. Foxman, B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic cost / B. Foxman // American Journal of Medicine. - 2002. - Vol. 113, Suppl. 1. - P. 5-13.
23. Hatt, J.K. Role of bacterial biofilms in urinary tract infections / J.K. Hatt, P.N. Rather // Curr. Top. Microbiol. Immunol. - 2008. - Vol. 322. - P. 163-192.
24. Hall-Stoodley, L. Bacterial biofilms: from natural environment to infectious diseases / L. Hall-Stoodley, J.W. Costerton, P. Stoodley // Nat. Rev. - 2004. - № 2. - P. 95-108.
25. Jacobsen, S.M. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* / S.M. Jacobsen [et al.] // Clin. Microbiol. Rev. - 2008. - Vol. 21. - P. 26-59.
26. Lewis, K. Riddle of biofilm resistance / K. Lewis // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. - 2001. - Vol. 45 (4). - P. 999-1007.
27. Marcus, R.J. Biofilms in nephrology / R.J. Marcus [et al.] // Expert. Opin. Biol. Ther. - 2008. - Vol. 8, № 8. - P. 1159-116
28. Miller, M.B. Quorum sensing in bacteria / M.B. Miller, B.L. Bassler // Ann. Rev. Microbiol. - 2001. - Vol. 55. - P. 161-199.
29. Norris, D.L. Urinary tract infections: diagnosis and management in the emergency department / D.L. Norris, J. Young // Emerg. Med. Clin. North. Am. - 2008. - № 26. - P. 41-430.
30. Oelschlaeger, T.A. Virulence factors of uropathogens / T.A. Oelschlaeger, U. Dobrindt, J. Hacker // Curr. Opin. Urol. - 2002. - № 12. - P. 33-38.
31. O'Toole, G.A. Biofilm formation as microbial development / G.A. O'Toole, H.B. Kaplan, R. Kolter // Ann. Rev. Microbiol. - 2000. - Vol. 54. - P. 49-79.
32. Parsek, M.R. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis / M.R. Parsek, P.K. Singh // Annu. Rev. Microbiol. - 2003. - Vol. 57. - P. 677-701.
33. Ronald, A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens / A. Ronald // Dis. Mon. - 2000. - Vol. 49. - P. 71-82.
34. Tapia, G. Biofilm: its relevance in kidney disease / Tapia, J. Yee // Adv. Chronic Kidney Dis. - 2006. - № 13. - P. 215-224.
35. Tenke, P. The role of biofilm infection in urology / P. Tenke [et al.] // World Journal of Urology. - 2006. - Vol. 24. - P. 13-2
36. Tenke, P. Update on biofilm infections in the urinary tract / P. Tenke [et al.] // World Journal of Urology. - 2012. - Vol. 3 - P. 51-57.
37. Trautner, B.W. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection / B.W. Trautner, R.O. Darouiche // American Journal of Infection Control. - 2004. - № 32. - P. 177-183.
38. Wathick, P., Kolter R. Biofilm, city of microbes // Journal of Bacteriology. - 2000. - Vol. 182. - P. 2675-79.

Поступила 7.08.2013